лище. Если возможно взятие сыворотки от доноров тканей, то лабораторные исследования проводятся с сывороткой и обязательно тканью. Определяется стерильность, вирусная контаминация, контаминация различными патогенными и условно патогенными агентами; перечень необходимых лабораторных исследований утверждается службами Минздрава. После отрицательных анализов ткани переносятся из временного хранилища в постоянное. Криоконсервированные фрагменты тканей используются в комплексной терапии патологических состояний человека, животных, птиц.

Низкотемпературные банки половых продуктов человека и животных, рыб, птиц и др. Организуются по разработанной схеме с целью обеспечения половыми продуктами всех этапов искусственного осеменения in vitro и in vivo. Целью банков половых продуктов является лечение бесплодия у людей, повышение частоты беременности и упрощения процедуры осеменения у животных, сохранения половых продуктов исчезающих и редки видов животных, создания запасов половых продуктов высокопродуктивных пород сельскохозяйственных животных. После криоконсервирования в биологических объектах возникают нелетальные репарируемые криоповреждения, которые проявляются в виде обратимой ингибиции процессов пролиферации и дифференцировки клеток, фрагментации многоклеточных микроорганизмов, стимуляции или ингибиции ферментативной и антибиотикопродуцирующей активности и др. Причиной указанных изменений являются обратимые ингибиции процессов биосинтеза НК и белка, продукции криострesспротеинов и ингибиция процессов биоэнергетики. Процессы репарации на ранних этапах обеспечиваются энергетически преимущественно процессами анаэробного гликолиза. После криоконсервирования обратимо ингибируются процессы продукции интерферона в перевиваемых клетках культур тканей. Этим обусловлено стимуляция процессов продукции вирусов в криоконсервированных клетках культур тканей в течение 2-3 пассажей. Во всех случаях необходимо знать характер нелетальных криоповреждений в криоконсервированных клетках и тканях, а также скорость их восстановления с целью последующего их эффективного использования в медицине, пищевой и антибиотико-продуцирующей промышленности, ветеринарии и сельском хозяйстве.

**SUMMARY**

**It was described the main goals and structures low temperature banks organization.**

Литература

1. Querol S., Gabarro M., Amat L. et al. The placental blood program of the Barcelona Cord Blood Bank//Bone Marrow Transplant. 1998. Vol.22. Suppl. 1. p.3-5
2. Richter E., Eichler H., Raske D. et al. 5% $Me_2SO_4$ is siffiecient to preserve stem cells derived from cord blood// Bone Marrow Transplant. 1998. Vol.22. Suppl. 1. P.S. 16

**В.И. Ананьев, М.С. Манохина**

*(ФГУ «Межведомственная ихтиологическая комиссия», БИНИИ СПГУ)*

# К ВОПРОСУ О СОЗДАНИИ НАЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ГЕНОФОНДНЫХ КОЛЛЕКЦИЙ РЫБ И ДРУГИХ ГИДРОБИОНТОВ РОССИИ ДЛЯ АКВАКУЛЬТУРЫ И СОХРАНЕНИЯ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ: ПРАВОВЫЕ И НОРМАТИВНО-МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Одной из важнейших задач агропромышленного комплекса страны является увеличение производства рыбопродукции за счет ускоренного развития аквакультуры. Непременное условие его — сохранение и рациональное использование генетических ресурсов гидробионтов, в том числе для искусственного воспроизводства таких ценных видов как осетровые и лососевые рыбы. Не менее значимой задачей яв-

ляется сохранение генофонда редких и исчезающих популяций и видов рыб, особенно тех, которые представляют практический интерес для увеличения уловов рыб в естественных водоемах или для введения их в аквакультуру как перспективных объектов разведения.

Решение таких задач невозможно без разработки проблем сохранения и использования генетических ресурсов рыб и других водных организмов на основе имеющихся знаний о популяционной структуре вида (популяции, породы), использования новых биотехнологий, в том числе криоконсервации. Генетические ресурсы имеют стратегическое значение для устойчивого воспроизводства рыбных запасов, для увеличения производства рыбопродукции. Обладание ими в целом является важным фактором успешного развития экономики страны, основой ее биологической и продовольственной безопасности. [1, 2, 7]

Для сохранения генетических ресурсов и генетического разнообразия гидробионтов приоритетной задачей является создание генофондных коллекций, которые должны обеспечить эффективную работу селекционно-племенных хозяйств, а маточные стада хозяйств аквакультуры разнообразным генофондным материалом — как живым (нативным), так и в криоконсервированном состоянии.

В отличие от зоологических коллекций назначение генофондных (генетических) — в сохранении не отдельных особей или небольших групп животных в демонстрационных целях или для их репродукции, а всего наследуемого адаптивного потенциала и генетико-популяционной структуры вида для оптимального его воспроизводства в природных условиях или при культивировании.

За исключением некоторых селекционно-племенных хозяйств, ведущих целенаправленную селекцию, в большинстве рыбоводных хозяйств и на рыбоводных заводах страны ремонто-маточные стада сформированы случайным образом, либо имеют ограниченный генофонд.

В настоящее время в практике селекционно-племенной работы нет четких представлений о назначениях собственно генофондных коллекций, соответствующих выше приведенной формулировке. Работы по молекулярно-генетическому и биохимическому тестированию существующих пород или искусственно воспроизводимых видов только начаты. Полные сведения о популяционной структуре имеются для немногих видов. Однако формирование коллекций и манипуляции с генетическим материалом не могут и дальше вестись стихийно. Необходимо единая государственная стратегия сохранения и использования генетических ресурсов страны с четкой правовой регламентацией деятельности в этой области.

Юридический статус имеющихся коллекций как государственных, так и частных до сих пор не определен, отсутствует единая система нормативно-методической документации, что не позволяет должным образом влиять на деятельность, как по формированию, так и по использованию генофондных коллекций в аквакультуре. В экономическом отношении содержание и использование случайно собранного генофондного материала также не эффективно.

Существующий генофондный материал не имеет должной правовой защиты, его сохранность и использование не контролируются органами управления Министерства сельского хозяйства РФ и Министерства природных ресурсов РФ, что может привести или к безвозвратным утратам его или к экологически небезопасному применению. Особенно важна целенаправленная работа по спасению и использованию генофонда редких и исчезающих видов, сохраняемых как в живых генофондных коллекциях, так и виде замороженной спермы в криобанках.

Создание системы коллекционных хозяйств потребует разработки нормативно-методической документации, способствующей развитию аквакультуры, восстановлению и поддержанию оптимальной популяционной структуры промысловых стад рыб и водных беспозвоночных, сохранению редких и исчезающих видов.

В документации должны учитываться достижения генетики и селекции, популяционо-генетических исследований и молекулярной биологии, биотехнологии (в том числе с использованием низкотемпературного длительного сохранения генетического и репродуктивного материала), мировые тенденции их развития [4,8,9].

Создаваемая нормативно-методическая документация должна соответствовать действующему законодательству в области охраны окружающей среды и животного мира, племенного дела в животноводстве и другим правовым актам, принятым в его развитие. Также необходимо учесть положения других законов и правовых документов, регулирующих охрану и использование генетических ресурсов, природопользование, обеспечение экологической безопасности и охрану здоровья населения.

Положения разрабатываемой документации в первую очередь должны соответствовать основополагающему закону в области рыбного хозяйства № 166 -ФЗ от 20 декабря 2004 года «О рыболовстве и сохранении биологических ресурсов», Закону РФ «Об охране окружающей среды» №7 ФЗ от 10 января 2002 года, Экологической доктрине Российской Федерации № 1225-р от 31 августа 2002 г., постановлениям Правительства Российской Федерации по проблемам генетических ресурсов, в том числе по обеспечению надлежащего уровня безопасности в области создания продукции высоких технологий, по контролю использования трансгенных организмов.

В связи с вхождением России в ФАО, участием ее в работе ряда международных организаций, таких как СИТЕС, Международный институт холода (МИХ), Международный союз охраны природы (МСОП), Программа ООН по охране окружающей среды (ЮНЕП), Сеть центров по аквакультуре в Центрально-Восточной Европе (NACEE) и др., большое внимание важно уделить международным аспектам проблемы формирования и использования генофондных коллекций гидробионтов.

Для подготовки нормативно-методической документации и рекомендаций по формированию генофондных коллекций должны быть использованы положения Конвенции о биологическом разнообразии (ЮНЕП), Международной договоренности о генетических ресурсах растений для сельского хозяйства и производства пищи (ФАО), руководящих принципов, относящихся к статьям, касающихся интеллектуальной собственности для договорных соглашений по доступу к генетическим ресурсам и распределению выгод Всемирной организации по интеллектуальной собственности (ВОИС) и др.

Необходимо учесть предложения научной общественности, высказанные на двух международных совещаниях, инициированных и проведенных с участием Межведомственной ихтиологической комиссии, поддержке Международного института холода (Франция) в 2000 и 2004 годах в г. Пущино Московской области и Санкт-Петербурге, посвященных проблеме сохранения генетических ресурсов с применением новых биотехнологий, а также материалы работы в 2002–2006 г.г. Научно-консультативных советов Межведомственной ихтиологической комиссии (по генетике и селекции рыб, товарному рыбоводству и др), на заседаниях которых рассматривались вопросы сохранения и использования генофондов гидробионтов, состояния племенной работы с рыбами [5].

Деятельность России в области сохранения и использования генетических ресурсов растений и животных получила заслуженное международное признание (работы Н.Н. Вавилова и др). Вопрос о необходимости сохранения генофонда гидробионтов в криобанках для стабилизации промысла, сохранения редких и исчезающих видов и развития аквакультуры также подняли русские ученые (Вепринцев и Ротт, 80-е годы прошлого века).

В 1990–1996 годах по их инициативе и участии ряда ученых России и Украины была разработана и частично реализована научно-техническая программа «Низкотемпературный генетический банк промысловых, редких и исчезающих видов рыб и водных беспозвоночных» («Криобанк рыб»), созданы несколько криобанков рыб, начаты работы по подготовке нормативной документации для формированию генетических коллекций в криобанках спермы рыб, но эта работа не была доведена до конца. [2,3,4].

Исходя из новой социально-экономической и политической ситуации в стране, прогресса в развитии биотехнологий, вопросы нормативно-методологического и правового обеспечения формирования и использования генофондных коллекций рыб и других гидробионтов требуют нового подхода и совершенствования.

Необходимо уже в настоящее время приступить к разработке нормативно-методических и правовых документов, регламентирующих деятельность хозяйств аквакультуры и органов управления агропромышленного комплекса при решении вышеперечисленных задач.

В этой связи предстоит провести комплекс научных и практических работ, которые будут способствовать созданию и функционированию Национальной системы генофондных коллекций рыб и других водных организмов, их правого и нормативно-методического обеспечения, в том числе:

- выполнить анализ состояния генетических ресурсов и генетического разнообразия гидробионтов на основе результатов популяционно- генетического мониторинга природных и искусственно воспроизводимых популяций, методов формирования генофондных коллекций, используемой терминологии и т.п.

- определить перечень видов (популяций, пород, породных групп) рыб и водных

беспозвоночных, подлежащие сохранению в генофондных коллекциях;

- классифицировать генофондные коллекции по направленности, специализации и назначению;

- сформулировать основные принципы стратегий формирования и использования генофондных коллекций натуральных (живых) и в низкотемпературных генетических банках, а также создания страховых фондов посадочного материала рыб и водных беспозвоночных;

- разработать правовые и экономические аспекты деятельности генофондных хозяйств, порядок организации криобанков и длительного хранения образцов генетического материала , включая вопросы паспортизации и сертификации генофондного материала, порядок использования, передачи и продажи генофондного материала , а также обмена на взаимовыгодных условиях пользователям как в нашей стране, так и в других странах;

- подготовить рекомендации по использованию разработанной нормативно-методической документации в хозяйствах аквакультуры, для воспроизводства ценных промысловых видов рыб, прежде всего, осетровых и лососевых , а также для спасения исчезающих видов и популяций, восстановления оптимальной популяционно-генетической структуры деградирующих стад промысловых рыб и др.

Генофондные коллекции рыб и водных беспозвоночных подразделяются на живые (нативные, натуральные) коллекции, которые должны содержаться в специализированных селекционно-племенных рыбоводных хозяйствах и/или экспериментальных базах научно-исследовательских институтов, и на коллекции глубокозамороженного репродуктивного материала (сперма, яйцеклетки), образцов соматических клеток и тканей, эмбрионов и предличинок в криобанках.

Возможно также сохранение генетического материала в других формах, а именно, в виде содержащихся при относительно низких температурах спиртовых или высушенных препаратов клеток и тканей, образцов ДНК и т.п. Однако коллекции подобного рода преимущественно используются для идентификации видов, пород, проведения популяционно-генетического мониторинга с целью установления популяционной структуры культивируемых видов и естественных популяций.

Кроме того, генофондные коллекции в зависимости от задач, для решения которых они формируются, могут иметь различную направленность или специализацию, например, эталонные коллекции, производственные, предназначенные для воспроизводства осетровых или лососевых, морских беспозвоночных и др. Разрабатываемая нормативная документация должна устанавливать основные принципы формирования перечисленных типов генофондных коллекций. В ней важно определить правовой статус генофондных хозяйств и генетических коллекций, предусмотреть бюджетное финансирование государственных коллекций и финансовую поддержку частных, льготное или полное освобождение от налогов), правовую охрану собственности на коллекционный генетический материал (особенно редких или исчезающих видов ), правила доступа и обмена генетическим материалом, продажи или передачи его потенциальным потребителям, в том числе в других странах.

Представляется необходимым уже в ближайшее время приступить к разработке пакета правовых и нормативно-методических актов.

В их числе:

1. Концепция создания Национальной системы генофондных коллекций рыб и водных организмов.

2. Положение о генофондных живых коллекциях и хозяйствах рыб и водных организмов.

3. Положения об экспериментальном и промышленных криобанках генофондов рыб и водных организмов.

4. Регламенты сбора, сертификации и закладки на хранение в низкотемпературный банк образцов геномсодержащих биологических материалов рыб и водных организмов.

6. Государственный реестр объектов аквакультуры, промысла, спасаемых видов, подлежащих сохранению в генофондных коллекциях.

7. Положения и инструкции о коллектировании биобразцов для генетико-биохимического и молекулярно-генетического анализов;

8. Положения об единой системе информационной системе базы данных генофондных хозяйств аквакультуры и криобанков генетического материала рыб и других водных организмов и др.;

9. Порядок отнесения генофондных коллекций рыб и водных беспозвоночных к статусам: международный, национальный, региональный, особого назначе-

ния (для сохранения осетровых, лососевых, карповых рыб и т.п.) и др.

Перечисленный выше примерный перечень документации в дальнейшим потребует уточнения и дополнений. Крайне важно, чтобы при разработке докуметации был бы использован соответствующий опыт стран ЕЭС.

Вышеприведенный пакет правовой и нормативно-методической документации должен быть использован для формирования и эксплуатации генофондных колекций для воспроизводства ценных промысловыъх рыб на рыбоводных заводах Федерального агентства по рыболовству, селекцинонно-племенными полносистемными рыбоводными хозяйствами, рыбопитомниками ГКО «Росрыбхоз», Федерального селекционно-генетического центра по рыбоводству Министерства сельского хозяйства, Центром молекулярно-генетической идентификации научного центра СИТЕС в Российской Федерации и др. Правовая и нормативно-методическая документация позволит регламентировать и улучшить работу по восстановлению видов рыб, находящихся на грани исчезновения, либо в угрожаемом состояни (атлантический и сахалинский осетры, шип, азовская белуга и др), будет способствовать созданию Национальной системы генофондных хозяйств и коллекций, развитию международного сотрудничества в этой области. Генетическим живым и криоколлекциям рыб России может быть придан в соответствии с разрабатываемой нормативно-методической документацией статус региональных, национальных, международных или особого назначения генофондных (генетических) коллекций.

Разрабатываемая нормативно-методическая документация должна предусматривать включение не только живых генетических коллекций, но и генетических криобанков в существующую структуру селекционно-племенных хозяйств и рыбоводных заводов, что обеспечивает дополнительный экономический эффект ввиду возможности уменьшения количества самцов и соответственно дорогостоящих ремонтных и маточных прудов без уменьшения гетерогенности коллекционного материала. Она также будет способствовать защите прав физической и интеллектуальной собственности на генетические ресурсы, регламентации доступа к генофондным ресурсам России, проведению экономической оценки работам по сохранению и использованию их, разработке новых эффективных методов консервации геномсодержащего материала.

Таким образом, в условиях рыночного хозяйствования разработка правовых и нормативно-методических документов по регламентации деятельности, формированию и использованию генофондных коллекций рыб и других водных организмов, необходимое условие развития эффективной аквакультуры, сохранения и восстановления деградирующих стад промысловых рыб, спасения редких и исчезающих видов и популяций.

Литература

1. Ананьев В.И., Гахова Э.Н., Катасонов В.Я., Ротт Н.Н., Цветкова Л.И. Концепция сохранения и устойчивого использования биоразнообразия с применением методов криоконсервации геномов гидробионтов. Рыбное хозяйство. Серия: Аквакультура. Вып.1. Москва. 1997. с.1-36. В сокращенном виде переиздана в 2002 году. Избранные труды ВНИИПРХ (в четырех томах), т. I-II. Дмитров 2002, с.385-398.
2. Ананьев В.И., Виноградов М.Е., Эрнст Л.К.. М.С. Манохина, Л.И. Цветкова. Национальная научно-техническая программа России «Сохранение и устойчивое использование генетических ресурсов промысловых, редких и исчезающих видов, популяций рыб и водных беспозвоночных с применением криотехнологий» («Генетический криобанк гидробионтов», 2003-2010г.г.). Материалы Международной научно-практической конференции «Аквакультура XXI века». Пос. Рыбное. 2002, с. 13-19.
3. Ананьев В.И, Л.И. Цветкова, М.С. Манохина, Л.П. Рыжков, О.Б. Докина. Проблемы сохранения геномов лососевых и осетровых рыб. Избранные труды ВНИИПРХ (в четырех томах).Том I-II. Дмитров 2002.С. 399-415.
4. Ананьев В.И, М.С. Манохина, М.Е. Виноградов. Проблемы создания криотехнологий для низкотемпературных генетических банков аквакультуры, сохранения геномов редких и исчезающих видов рыб. Материалы Международной конференции «Сохранение генетических ресурсов». С-Петербург , 19-22 октября 2004 . Цитология 2004, с.764-768.
5. Ананьев В.И., Манохина М.С. Новые аспекты в стратегиях сохранения и мобилизации генетических ресурсов. 2005. Использование и охрана природных ресурсов в России, Бюллетень №2, с. 72-78.
6.Ananiev V.I. Research Results and Perspectives of the Program: «Low Temperature Gene Bank of Marketable Rare and Endangered Fish and Aquatic Invertebrate Species.» Action Before Extinction. An International Conference of Conservation of Fish Genetic Diversity. Vancouver, British Columbia, Canada, February 16-18, 1998.p.p.147-162.
7. Ananiev V.I..The role of low –temperature gene banks in the system jf measures of conservation of rare and endangered fish species and in the aquaculture. «Cryopreservation and safe keeping of cells and tissues» May 13-15 2002. Hradec Kralove, Chech Republic. May 13-15,2002 Hradec Kralove, Czech Republic.P.39.
9. Barmintsev V., Ananiev V., Manohina M.Molecular testing of the NTGB Collections. «Cryopreservation and safe keeping of cells and tissues» May 13–15. 2002. Hradec Kralove, Chech Republic. May 13-15,

2002. Hradec Kralove, Czech Republic.P.40.
10. Manochina M.,. Ananiev V. Cytological criteria of cryoresistance condition in the elaboration of cryotecnologies for hydrobionts' embryos. IIR International Conference. «Cryopreservation and safe keeping of cells and tissues» May 13–15 2002. Hradec Kralove, Chech Republic. May 13–15, 2002. Hradec Kralove, Czech Republic.P.43.

УДК 575.113

**В.И. Глазко**
*(Украинская академия аграрных наук)*

# ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ СОХРАНЕНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ

В литературе имеется около 85-ти определений биоразнообразия. Феноменологические аспекты биоразнообразия подразделяют на 4 взаимосвязанных уровня: [1] генетический; [2] популяционное/видовой; [3] экосистемы/сообщества; и, наконец, [4] ландшафтный. Базовым, очевидно, является генетический уровень. Важность такого подразделения связана с необходимостью поиска оптимальных показателей генетической компоненты биоразнообразия на каждом из перечисленных уровней для разработки методов оценки его состояния и его регуляции. Концепция генетической компоненты тесно связывает феноменологические и аналитические аспекты биоразнообразия, а также полифакторные условия окружающей среды, в которых оно воспроизводится.

Разработка методов управления генетической компонентой включает в себя поиски молекулярно-генетических особенностей формирования генофондов разных видов и специфики их популяционно-генетической адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды.

С целью оценки генетических особенностей у сельскохозяйственных и близкородственных диких видов полорогих выполнен сравнительный анализ распределения продуктов амплификации фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами 12-ти фрагментов тринуклеотидных микросателлитных локусов (метод ISSR-PCR). Наибольшее количество ампликонов как в общем спектре, так и равной длины при сравнении генофондов разных видов получено с использованием 3-х тринуклеотидных праймеров: $(CTC)_6A$, (CTC)6C, $(GAG)_6C$. Полученные данные свидетельствуют о том, что использование фрагментов тринуклеотидных микросателлитных локусов, принадлежащих к пурин/пиримидиновым трекам в качестве праймеров может быть наиболее информативным для популяционно-генетических исследований и межвидовых сравнений.

Впервые выполнен сравнительный анализ полиморфизма фрагментов ДНК (ISSR-PCR), ряда транспортных белков и ферментов между представителями отряда *Ungulata и Delphinidae*. По таким генетико-биохимическим системам, как (TF), (GC), (CP), (ALP), (ME), (PTF-2) получены данные о сходстве дельфинов и представителей отряда непарнокопытных (лошадь, лошадь Пржевальского, кулан и осел), по (LDH), (GDH) — с парнокопытными, по полиморфизму таких систем, как (TF), (GC), (PTF) наблюдалось сходство дельфинов с доместицированными видами копытных (крупный рогатый скот, лошади, свиньи). По распределению фрагментов ДНК (ISSR-PCR) дельфины оказались сходны, примерно в равной степени, с представителями, как непарнокопытных (*Perissodactyla*), так парнокопытных (*Artiodactyla*), причем по распределению фрагментов в спектрах (ISSR-PCR) у них преобладали фрагменты малой длины (400–1100 п.н.), так же, как у доместицированных видов. Сходства и различия по включенным в анализ молекулярно-генетическим маркерам между дельфинами и парно- и непарнокопытными могут указывать на вероятность более раннего расхождения *Cetacea* и *Ungulata*, еще до того, как последние разделились на (*Perissodactyla*) и (*Artiodactyla*).

С целью выяснения влияния факторов искусственного и естественного отборов на формирование генетической структуры, выполнены популяционно-генетические исследования пород и внутрипородных групп крупного рогатого скота. Получены данные, свидетельствующие о том, что широкое использование гамет огра-